

学位授与番号	医博甲第1527号
学位授与年月日	平成14年3月31日
氏名	倉知 慎
学位論文題目	Identification of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin responsive genes in mouse liver by serial analysis of gene expression (Serial analysis of gene expression (SAGE) 法を用いた2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p dioxin (ダイオキシン) 曝露マウス肝臓の包括的遺伝子発現解析)
論文審査委員	主査 教授 村上 清史 副査 教授 中沼 安二 教授 馬 淵 宏

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

内分泌攪乱物質（いわゆる環境ホルモン）は免疫毒性、催奇形、行動異常、皮膚障害、性機能障害、肝機能障害など、ヒトに種々の影響を及ぼすことが報告されている。脂溶性物質である内分泌攪乱物質は、腸管から吸収された後に脂肪組織と肝臓に高度に集積し、特に代謝を司る肝臓に対しては短期的には肝障害を、長期的には肝発癌を誘導することが知られている。内分泌攪乱作用の分子機序として肝遺伝子発現に及ぼす影響については基礎代謝から変異している培養肝腫瘍細胞(HepG2)を cDNA microarray で解析した報告があるのみであり全体像にはなお不明な点が多い。SAGE 法は未知の遺伝子を含めて定量的に遺伝子転写産物の解析が可能な技術である。今回内分泌攪乱物質による *in vivo* での詳細な肝遺伝子発現変化を解析するために、代表的な内分泌攪乱物質である2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)を経口投与したマウス肝を SAGE 法(Serial analysis of gene expression)を用いて解析した。

1. マウス C57BL/6 雌 6 週令(各群 n=3)に TCDD 20 µg/kg を単回経口投与し7日目に肝臓を摘出し、SAGE 法にて非投与肝 56,420 個、投与肝 56,647 個、合計 113,067 個の転写産物を解析した。
2. 以前我々が報告したヒト正常肝と今回のマウス正常肝の遺伝子発現プロファイルを比較検討したところ、多少の順位差はあるものの主要な血清蛋白質や代謝酵素群の組成は高度に共通しており、マウス肝臓がヒト肝臓に機能面においても類似することおよび哺乳類肝臓として種々の毒性試験に応用されることが示唆された。
3. 投与・非投与群間を統計学的解析した結果、346 個（うち 94 個が未知遺伝子と推定）の遺伝子発現変動を認めた。(p<0.05) うち発現が誘導された遺伝子 161 個、抑制された遺伝子 185 個であり、従来発現変化が指摘されていた薬物代謝遺伝子やストレス応答遺伝子に加えて、細胞骨格関連遺伝子、酵素、核内転写因子なども幅広く変動を示した。ほとんどの遺伝子発現変化は 2-4 倍程度であったが、TCDD は従来考えられていたよりもはるかに広範で複雑な遺伝子発現変化をもたらすことが示された。またこれらの既知遺伝子の他に、EST database に報告のある遺伝子、未だ報告のない遺伝子も多数含まれていた。

本研究は TCDD を経口投与したマウス肝臓を SAGE 法を用いて解析することにより TCDD への生体反応をより詳細に生理的条件下で明らかにしたものであり、これまで報告されてきた個々の TCDD 感受性遺伝子と TCDD の生体影響を結びつけて理解する一助となるものと思われ、ダイオキシン肝毒性機序のさらなる解明に寄与する価値ある研究と判断された。